

## 学位論文審査結果の要旨

氏名	山内 俊史
審査委員	主査 望月 輝一 副査 満田 憲昭 副査 打田 俊司 副査 古川 慎哉 副査 濱口 直彦

論文名 胎児発育不全マウスにおけるアンギオテンシンII 2型受容体の働き

### 審査結果の要旨

#### 【背景】

WHOによると、世界の全出生のうち15%が出生体重2500g未満の低出生体重児であるとされている。FGR(fetal growth restriction)はその主な原因の一つだが、FGRは乳児期のみならず、成人期の心血管病、代謝疾患などの危険因子となることが、疫学や動物研究により指摘されている。このように生育期にうけたプログラミングが成人期の健康に影響を与えるという概念はDOHaD(developmental origins of health and disease)と呼ばれ注目されている。

申請者らは以前、FGRマウスにおいて、血管障害による血管リモデリングが非FGRマウスに比べ増強することを報告した。一方でレニンアンギオテンシン系(renin angiotensin system, RAS)は高血圧をはじめとした心血管病の病態に深く関わっており、中でもアンギオテンシンII2型受容体(AT<sub>2</sub>R)は心臓血管疾患に対して保護的役割を果たすとされている。またAT<sub>2</sub>Rは、成体組織よりも胎児組織において発現量が多く、胎児の臓器発生にも重要な役割を果たすと考えられている。

FGRにより成人期の心血管疾患が増加するとされるが、この時RASが影響を与えている可能性がある。妊娠高血圧症候群やFGRにおけるRASに焦点を当てた報告はいくつかあるものの、これまで遺伝子改変マウスを用いてFGRにおけるRASの効果を調べた研究はない。申請者は、AT<sub>2</sub>Rノックアウト(AT<sub>2</sub>KO)マウスを用い、FGRにおいてAT<sub>2</sub>Rが心血管に与える影響を検討した。

#### 【方法と結果】

野生型C57BL/6J(WT)マウスとAT<sub>2</sub>Rノックアウト(AT<sub>2</sub>KO)マウスを用いてFGRモデルを作成した。FGRは母体の蛋白制限によるFGRモデルを使用した。10週齢のマウスを蛋白通常蛋白(NP)群と低蛋白(LP)群に分け、出産まで栄養を与えた。出生後は全て通常蛋白食に変更

し、出生した仔マウスを使用した。WT-NPO, WT-LPO, AT2KO-NPO, AT2KO-LPO の 4 群として検討を行った。

LPO 群はそれぞれ NPO 群と比較して有意に出生体重の低下を認め、蛋白制限により FGR が誘導されたと考えられた。12 週齢で心拍、血圧を計測したがそれぞれ有意な差は認めなかった。2、6、12 週齢で心臓、肝臓、腎臓、脳の臓器重量を計測し体重による補正を行った。2 週 6 週では有意差はなかったものの、12 週齢において AT2KO-LPO の心臓重量/体重と腎臓重量/体重の比は、他の群より有意に高かった。

次に 6 週齢、12 週齢に心臓中央部の短軸切片を作成し HE 染色で心筋細胞と心室壁肥厚の評価を行い、エラスチカ・ワンギーソン染色で間質の繊維化と動脈周囲の繊維化を評価した。動脈周囲繊維化については動脈径との比で比較を行った。12 週齢において AT2KO-LPO では左室肥大、心筋細胞肥大を認めた。また間質の繊維化に有意差は認めなかったが、血管周囲の線維化は亢進していた。6 週齢、12 週齢の心臓組織においてリアルタイム RT-PCR を行い AT<sub>1</sub>R、AT<sub>2</sub>R と、1 型コラーゲン、IL-6, MCP-1, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  の mRNA 発現を検討した。コラーゲン I および炎症性サイトカインの mRNA 発現は、6 週齢で AT2KO-LPO 心臓で有意な上昇を認めたが、12 週齢では有意差はなかった。

血管リモデリングの評価として炎症性血管障害モデルを作製し *in vivo* の実験を行った。各 4 群の 10 週齢のマウスの大腿動脈にポリエチレンカフを留置し、カフ留置 2 週後に大腿動脈を採取した。エラスチカ・ワンギーソン染色により血管内の新生内膜を評価した。WT において LPO は NPO に比べ新生内膜の増加を呈したが、AT2KO においては LPO は NPO と比較し有意な増加は認めなかった。

#### 【結論】

以上のことから、FGR であった場合、AT<sub>2</sub>R のシグナル伝達が成人期の心血管障害に影響を与える可能性がある。AT<sub>2</sub>R を調節することで、FGR に対し将来の心血管疾患の予防に寄与する可能性が示唆された。

公開審査会は、平成 31 年 2 月 25 日に開催され、申請者は、研究内容を英語で明確に発表した後に、審査員から (1) 研究の着眼点、(2) マウスのタイプの掛け合わせ方、(3) 生後の体重増加のキャッチアップの影響、(4) KO マウスの母体差、(5) 6 週と 12 週の結果の違い、(6) マウスの餌で蛋白以外の成分の影響について、(7) 実験中の麻酔や血圧測定 of 精度・誤差、(8) 将来展開、等の質問がなされた。これらの質問に対し申請者は明確に回答した。

審査委員は、申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判定した。